

L'ASCOCARPE DE *TERFEZIA LEONIS* TUL. (DISCOMYCÈTES, TUBÉRALES)

L. KHABAR (1), L. NAJIM (1),
M.C. JANEX-FAVRE (2) et A. PARGUEY-LEDUC (2)

(1) Laboratoire de Botanique (Mycologie), Département de Biologie,
Faculté des Sciences Université Mohammed V, B.P. 1014,
Avenue Ibn Batouta - Rabat - Maroc.

(2) Laboratoire de Biologie de la Reproduction des Végétaux (Mycologie)
Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 9 Quai Saint-Bernard
75252 Paris cedex 05 - France.

RÉSUMÉ - La structure de l'ascocarpe hypogé, des asques et des ascospores d'une truffe des sables, *Terfezia leonis* Tul., a été observée en microscopie photonique et électronique. Les caractères propres aux Terfez ont été reconnus: péridium lisse, glèbe comprenant des nodules fertiles et des veines stériles de texture dense, asques à huit ascospores pourvues d'une ornementation d'origine exospore et d'une endospore. Cette nouvelle étude fait ressortir l'originalité déjà soulignée de l'organisation des ascocarpes et des asques chez les Tubérales, ce qui justifie que cet ordre soit conservé ■ sein des Discomycètes.

SUMMARY - The structure of the hypogeous ascocarp, asci and ascospores of *Terfezia leonis* (a sand truffle) are observed with light and electron microscopes. Generic features in *Terfezia* structure are: smooth peridium, gleba composed of fertile nodules and dense sterile veins, eightspored asci, ascospore wall endowed with an ornamentation from exospore origin and an endospore. Genera *Terfezia* and *Tuber* display common noticeable features justifying that the order Tuberales be maintained among Discomycetes.

MOTS-CLÉS - ascocarpe, asques, ascospores, ultrastructure, Tubérales, *Terfezia*.

Terfezia leonis est une «Truffe des sables» fréquemment récoltée au Maroc en raison de sa valeur nutritionnelle élevée (Ashour et al., 1981 et Al-Shabibi et al. 1982). Nous avons pensé que l'étude de cette espèce compléterait utilement celle faite auparavant (Janex-Favre et Parguey-Leduc, 1985 et Janex-Favre et al., 1988) sur deux autres espèces de *Terfez* (*T. claveryi* et *T. leptoderma*, seule espèce française de *Terfez*).

Nous avons centré nos études essentiellement sur l'ultrastructure des ascocarpes et des asques de façon à pouvoir situer le genre *Terfez* par rapport au genre *Tuber* et

savoir si la position marginale des Tubérales au sein des Discomycètes était confortée ou non par ces observations.

BIOLOGIE DE *T. LEONIS*

Nos échantillons proviennent de la forêt de la Mamora, à l'est de Rabat. Celle-ci couvre une surface de l'ordre de 130.000 hectares et s'étend de l'est à l'ouest sur environ 70 kilomètres et du nord au sud sur 30 kilomètres. L'altitude maximale de la forêt est 280 m environ à son extrémité sud-est.

Les tubercules de *Terfezia* se rencontrent dans un horizon sableux humifère de couleur grise, ■ dépassant pas 25 cm de profondeur et comportant de nombreuses racines de végétaux ligneux et herbacés. L'analyse du sol montre qu'il est constitué de sables grossiers (dimensions situées entre 0,063 et 1 mm) et qu'il contient seulement 2,1% de calcaire.

Le climat qui règne dans les stations étudiées (données concernant la période 1983-1987) est caractérisé par une quantité de pluie annuelle normale de 544,2 mm (pouvant atteindre 600 mm, par exemple en 1983-1984, et seulement 377,2 mm en 1986-1987). Les pluies tombent d'octobre à mai, principalement en novembre, décembre et janvier. Les températures moyennes mensuelles se situent entre 12°6 (Janvier) et 22°4 (août).

La formation principale végétale régnant dans les stations étudiées est une forêt de chêne-liège ou subéraie telle qu'elle a été décrite dans la flore des végétaux ligneux de la Mamora de Metro et Sauvage (1955); l'élément arborescent dominant de cette subéraie est le chêne-liège (*Quercus suber*). La strate arbustive est constituée essentiellement de cistes (ex. *Cistus crispus*, *C. monspeliensis*, *C. salvifolius*...). La strate herbacée est caractérisée le plus souvent par *Helianthemum guttatum* et par des plantes bulbeuses (ex. *Urginea mantina*, *Asphodelus microcarpus* et *A. aestivus*).

La flore mycologique est assez riche; ainsi, à côté de *T. leonis*, on trouve d'autres champignons hypogés: *T. leptoderma*, quelques espèces de *Tuber*, *Delastria*, en particulier sous les pins nouvellement utilisés en reboisement (*Pinus pinaster atlantica*).

Le *Terfezia leonis* est en relation constante avec l'*Helianthemum guttatum* Mill. avec lequel il forme une relation mycorrhizienne. C'est un champignon comestible apprécié, qui est détecté par la méthode dite «à la marque» (le sol est gonflé et fendillé en surface, à la base de l'hélianthème). *T. leptoderma* et *T. leonis* sont généralement confondus: la première espèce, qui est noire, est considérée comme l'état mûr de la seconde, blanc crème à blanc jaunâtre.

Les ascocarpes de *T. leonis* apparaissent dès le mois de mars et mûrissent lentement, comme ceux de *T. leptoderma* récoltés en France (Janex-Favre et al., 1988); ils ne deviennent matures qu'au mois de mai.

Il faut noter que *T. leonis*, qui fait l'objet du travail présenté ici, a été trouvé ■ dehors du Maroc par Moyen (1889) dans le sud de la France, par Chatin (1891a) à Carthage et en Lybie, par Mattiolo (1905) au centre et au sud du Portugal, et par Langiu (1979) en Sardaigne.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour les études en microscopie photonique, des préparations par écrasement de fragments d'ascocarpes ont été effectuées, dans l'eau ou dans divers colorants: rouge neutre, bleu coton, Lugol, vert Visba, bleu BZL, encre, rouge de ruthénium. Des colorations sur coupes (après fixation par le liquide de Westbrook -1935- et dans la paraffine) ont, en outre, été réalisées à l'aide de l'hématoxyline ferrique et de l'éosine.

Pour les études en microscopie électronique par transmission des fragments d'ascocarpes ont été traités par les méthodes classiques: double fixation par le glutaraldéhyde à 6% et le tétroxyde d'osmium à 2%, avec tampon de Sørensen, inclusion dans la résine de Spurr. Les coupes, effectuées à l'aide d'un ultramicrotome Reichert OMU 3, ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (18 minutes) ou traitées par la technique de Thiéry (1967); des coupes semi-fines, colorées par la pyronine, ont été observées au microscope photonique. Les observations en microscopie électronique ont été faites à l'aide d'un microscope Philips 30.15 sous une tension d'accélération de 80 KV.

Pour les études en microscopie électronique à balayage, de petits cubes d'ascocarpes ont été fixés au permanganate de potassium à 1% dans un tampon à pH 6,8. Plusieurs lavages à l'eau distillée ont précédé une déshydratation progressive à l'acétone (25%, 50%, 75%, 95% et 100%). Après avoir été séchés par la méthode du point critique, les échantillons sont déposés sur des supports en aluminium et métallisés avec une fine couche d'or.

RÉSULTATS

1. Morphologie de l'ascocarpe

Les ascocarpes de *T. leonis* examinés ont de 2 à 10 cm de diamètre et pèsent de 4 à 200 g. De forme variable (subglobuleux, cordiformes, bossués - fig. 1 et 2a -) ils sont limités par un péricidium lisse, mat, blanc crémeux, tournant avec l'âge au brun roux plus ou moins foncé. Par simple écrasement de fragments d'ascocarpes on constate que leur âge dépend surtout de leur couleur mais non de leur taille; ainsi des ascocarpes de petite taille mais de couleur brune à marron sont parfaitement mûrs.

2. Structure de l'ascocarpe

Observé en coupe (fig. 2b) l'ascocarpe présente deux parties, le péricidium, externe, et la glèbe, interne.

Le péricidium, de 0,5 à 2,5 mm d'épaisseur, est formé d'un tissu paraplectenchymateux (fig. 3). Sa partie externe (*pe*), sombre, est très compacte et dure, formée de cellules de forme polygonale jointives. Vers l'intérieur les cellules deviennent progressivement plus grandes et disjointes (*pe*), il s'ensuit un aspect plus clair et une consistance molle.

La glèbe, pulpeuse, contient de nombreux nodules fertiles (*n*), d'abord rosâtres puis devenant ochracé olivacé à marron, séparés par des interstices pâles, qui sont des

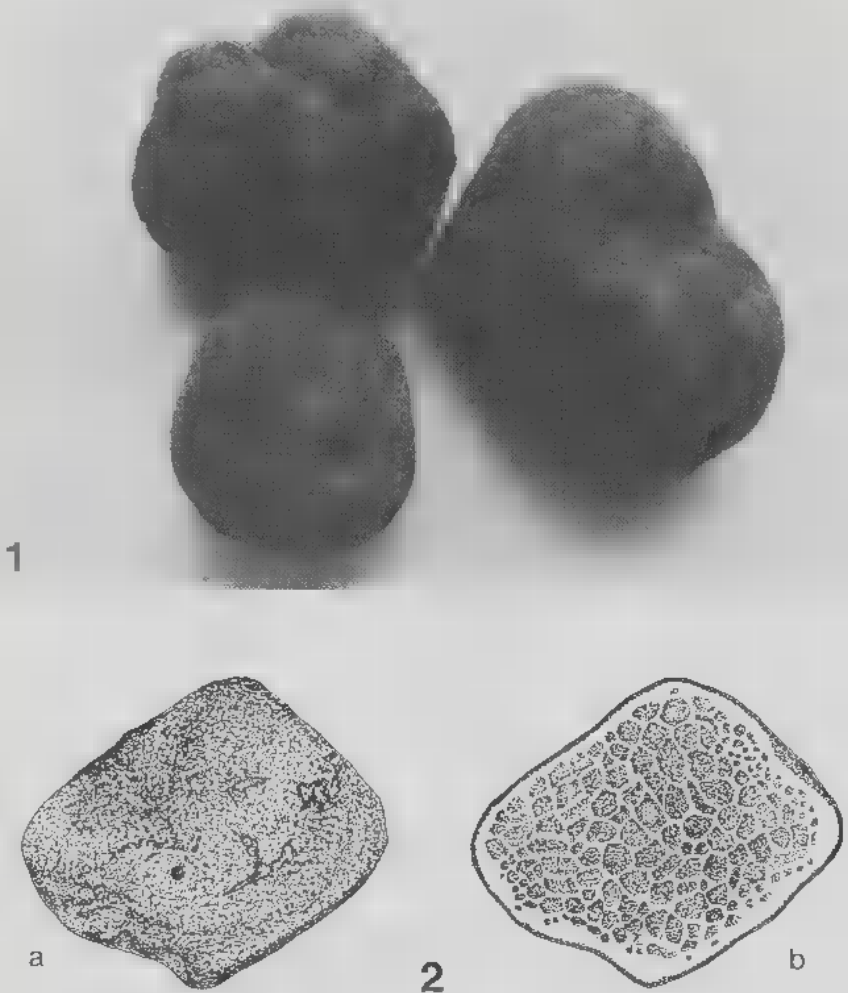


Fig. 1 et 2: Morphologie et structure générale de l'ascocarpe de *T. leonis*. Fig. 1: divers aspects morphologiques d'ascocarpes. Fig. 2: un ascocarpe en vue externe (a) ■ en coupe longitudinale (b). x 1.

Fig. 1 and 2: Morphology and gross structure of ascocarp in *T. leonis*. Fig. 1: various morphological features of ascocarps. Fig. 2: the ascocarp, external view (a) and longisection (b). x 1.

veines stériles (vs). Anatomiquement indifférenciées (Trappe, 1971), elles sont constituées de cellules polygonales jointives à contenu cellulaire peu dense.

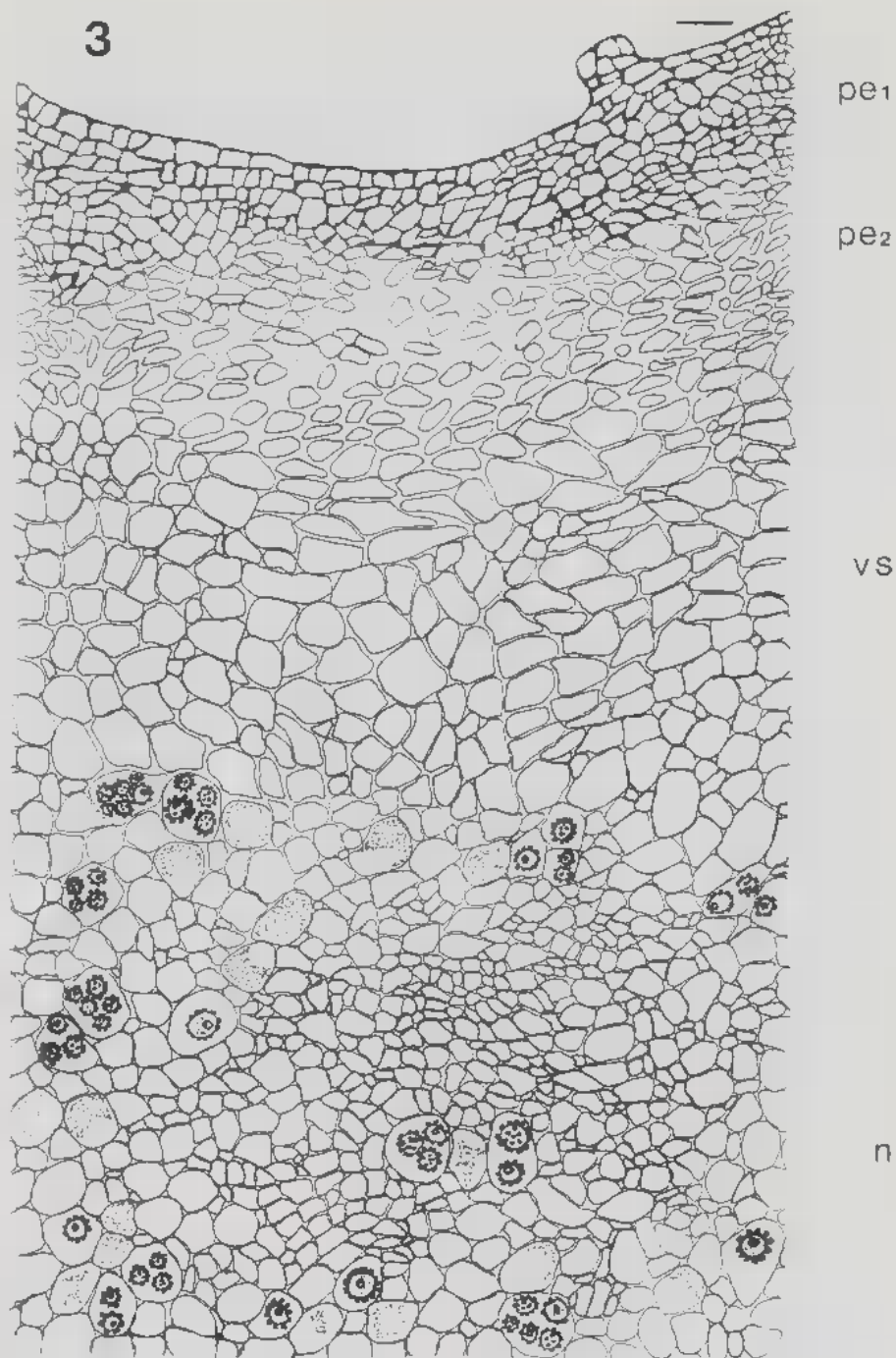


Fig. 3: Structure de l'ascocarpe de *T. leonis*. Peridium pe_1 , + pe_2 , et glèbe avec veine stérile vs et nodule fertile n . Coloration: hématoxyline ferrique et éosine. Echelle: 50 μ m.

Fig. 3: Ascocarp structure in *T. leonis*. Peridium pe_1 , + pe_2 , and gleba with sterile vein vs and fertile nodule n . Stains: ferric hematoxylin and eosine. Scale: 50 μ m.

Les asques sont enrobés dans un «tissu» interascal hétérogène (fig. 4), formé de cellules polygonales étroitement juxtaposées de deux types. Les uns représentent l'appareil sporophytique (*sp*) producteur des asques (*as*). Il s'agit de files de cellules généralement terminées par un asque et contenant de nombreuses petites vacuoles et des granulations cytoplasmiques denses. Les autres éléments du tissu interascal forment un tissu de soutien stérile (*st*): ce sont des cellules très grandes et très vacuolisées.

Les observations en microscopie photonique ont permis de suivre l'évolution des asques (fig. 5).

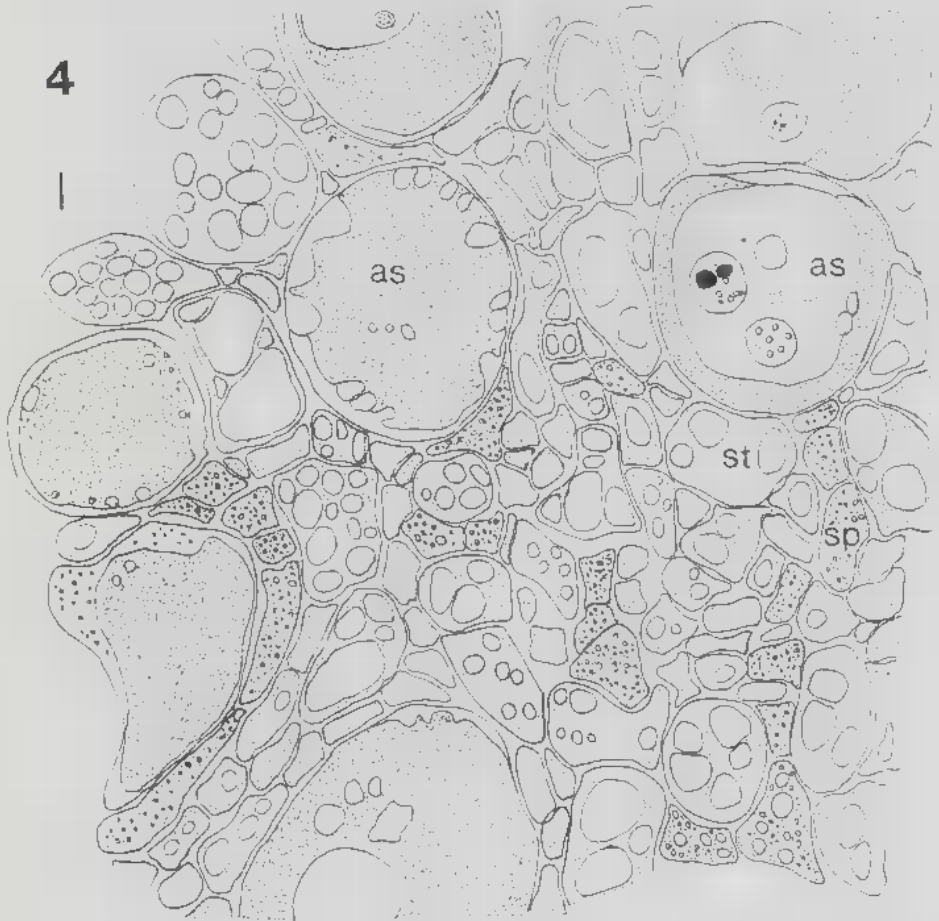


Fig. 4: Structure de la gèbe de *T. leonis*. Asques *as* à différents stades de développement et tissu interascal comprenant des cellules de l'appareil sporophytique *sp* et des cellules stériles *st*. Coupe semi-fine colorée par la pyronine. Echelle: 10 μ m.

Fig. 4: Gleba structure in *T. leonis*. Asci *as* at various developmental stages and interascal tissue consisting of sporophytic cells *sp* and sterile cells *st*. Semithin section coloured with pyronine. Scale: 10 μ m.

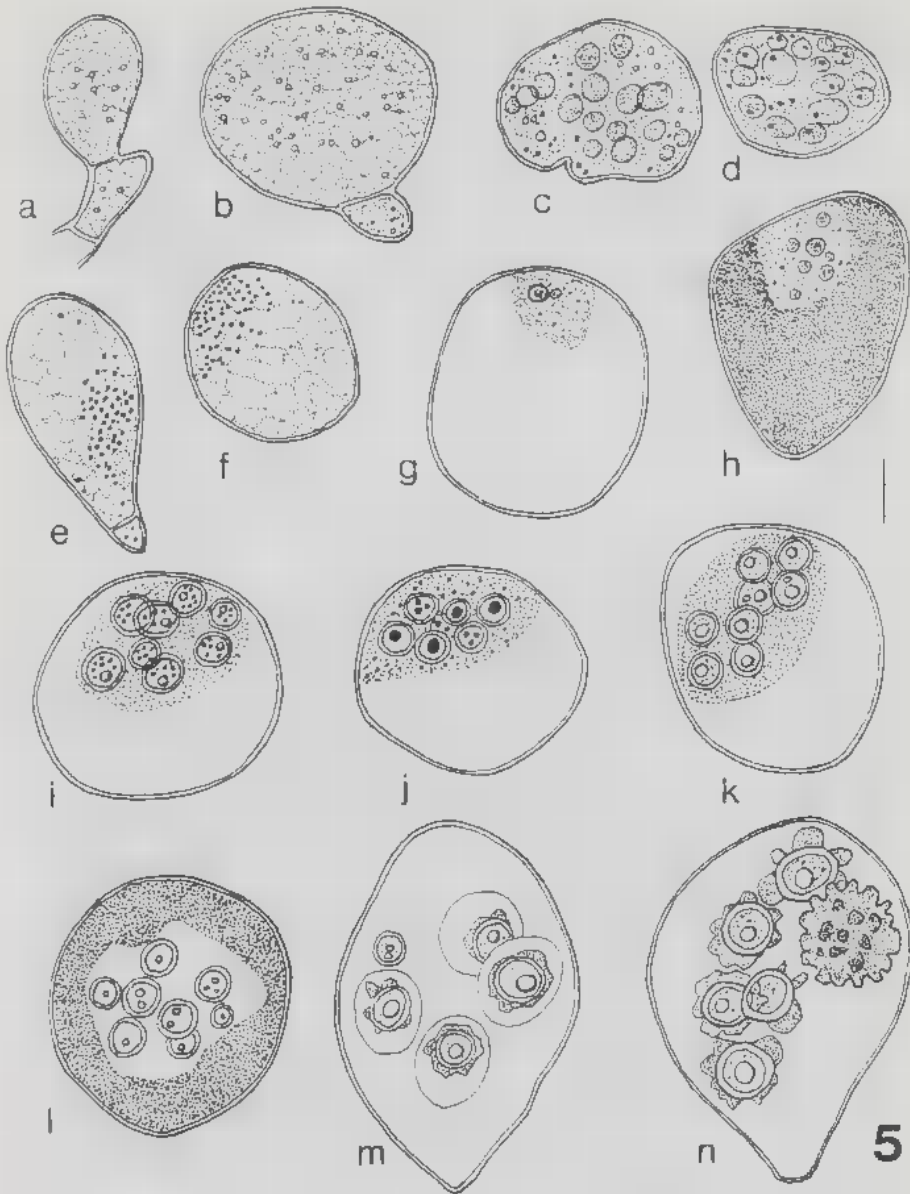


Fig. 5: Evolution des asques de *T. leonis* (voir le texte). Montage dans l'eau (a, b, g, k, m) ou avec coloration: rouge neutre (c, d, i), bleu BZL (e, f, j), lugol (h, l), rouge de ruthénium (n). Echelle: 20 μ m.

Fig. 5: Ascus development in *T. leonis* (see in text). Water mounting (a, b, g, k, m) or with staining: neutral red (c, d, i), BZL blue (e, f, j), lugol (h, l), ruthenium red (n). Scale: 20 μ m.

Le jeune asque, sous lequel est généralement encore visible la file de cellules sporophytiques, a d'abord une forme allongée (fig. 5a et e) puis il devient globuleux (fig. 5b et f). Il contient de nombreuses petites vacuoles tassées les unes contre les autres et les globules lipidiques (fig. 5a, b, e, f). Dans chacune des vacuoles peut apparaître un précipité chromophile (fig. 5d).

Au cours du développement de l'asque, une enveloppe s'individualise à son sommet (fig. 5g), séparant la partie basale, de plus en plus riche en glycogène, de la partie sommitale qui contient les autres constituants. C'est dans cette dernière que se différencient les ascospores (fig. 5h), d'où le nom de sac postsporal donné à l'enveloppe. Progressivement, le volume de la région contenant les ascospores en voie de maturation (fig. 5, i, j, k) s'accroît. Par la suite le contenu de l'asque se réorganise de sorte que dans l'asque sub-adulte les ascospores se localisent au centre et le glycogène en périphérie (fig. 5l). Celui-ci disparaît progressivement ainsi que le sac postsporal (fig. 5m, n), ce qui permet la dispersion des ascospores dans tout le volume de l'asque adulte.

Le développement de l'asque est ainsi, comme chez toutes les Tubérales, marqué par un changement dans la polarité des constituants: ceux-ci sont répartis d'abord en deux zones superposées, puis en deux zones concentriques.

Dans la paroi ascale la coloration au rouge de ruthénium (fig. 5n) fait apparaître deux couches: une couche interne très colorée, et donc riche en pectines, et une couche externe peu colorable par ce colorant, mais retenant par contre à peu près tous les autres colorants employés, ce qui indique une nature complexe.

Le nombre des ascospores est classiquement de 8 dans chaque asque, ce qui distingue les *Terfezia* de la plupart des *Tuber*, chez lesquels le nombre d'ascospores varie de 1 à 8. Les jeunes ascospores de *T. leonis* sont entourées par une paroi hyaline assez épaisse et régulière (fig. 6a); celle-ci fait place progressivement à une paroi formée de deux parties: une partie interne, claire et régulière, et une partie externe, sombre et ornementée qu'entoure transitoirement une périspore claire (fig. 6b). L'ornementation est constituée de verrues, d'abord en forme de cône surbaissé (fig. 6b) puis devenant progressivement plus longues et sub-cylindriques (fig. 6c), et parfois terminées par une zone plus claire (fig. 6d). L'ornementation ainsi réalisée est également bien visible en microscopie électronique à balayage: au stade photographié, l'ascospore est totalement recouverte de verrues encore courtes et tronquées (fig. 6e).

Les ascospores contiennent différentes inclusions, notamment de petites vacuoles (fig. 5i et 6a) et de petits globules lipidiques (fig. 5j); ceux-ci se réunissent en une gouttelette unique (fig. 5j, k et 6a, b, c), qui est probablement la «goutte oléagineuse» mentionnée par Bataille (1921) chez les Truffes.

3. Etude ultrastructurale de la glèbe

Les nodules fertiles de la glèbe sont constitués par les asques et le «tissu» interascal, formé de cellules de l'appareil sporophytique et de cellules stériles à rôle de soutien. Toutes ces cellules sont polygonales et étroitement appliquées les unes contre les autres, formant un système compact dépourvu de méats.

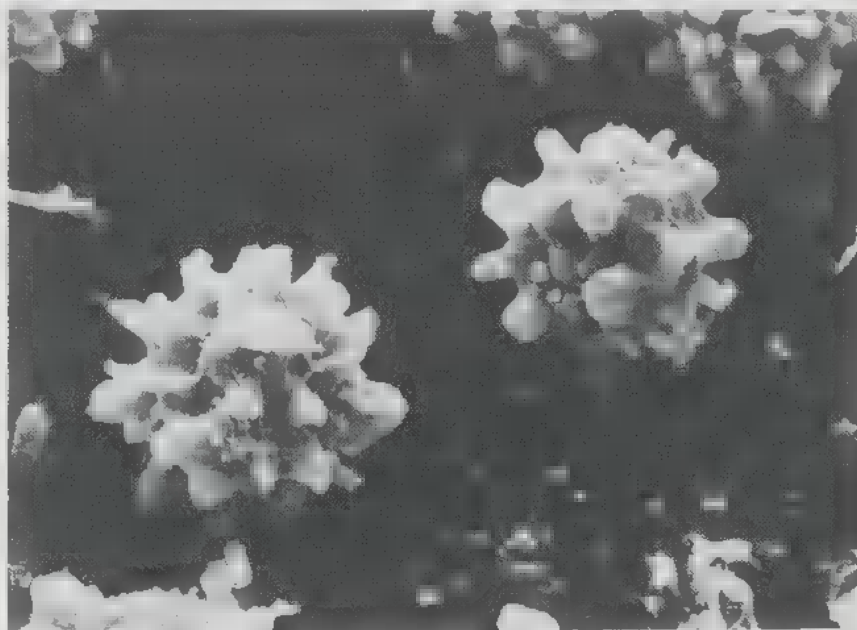
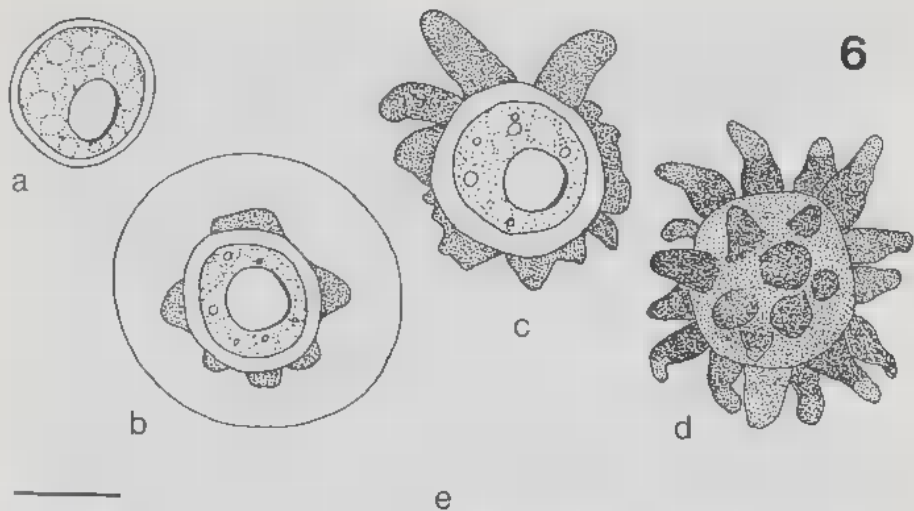
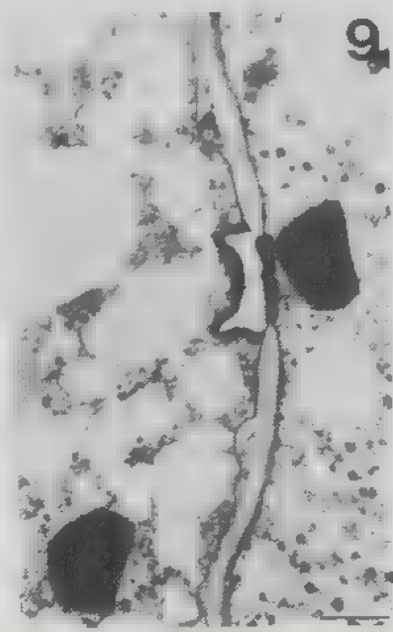
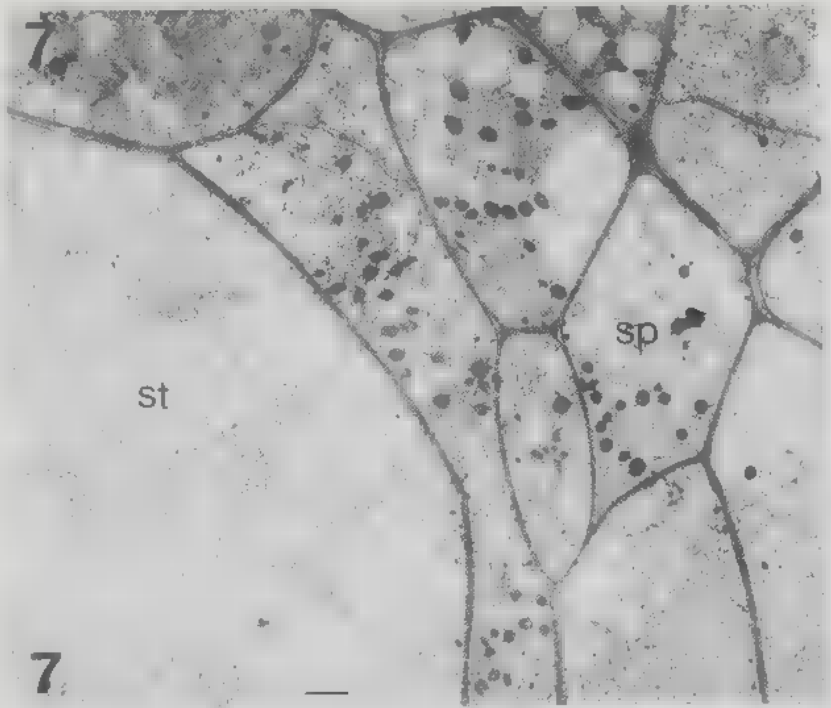


Fig. 6: Evolution des ascospores de *T. leonis* (voir le texte). Microscopie photonique, montage dans l'eau (a et d) ou avec coloration: rouge de ruthénium (b), bleu coton (c). Microscopie électronique à balayage (e). Echelle: 10 μ m.

Fig. 6: Ascospore development in *T. leonis* (see in text). Light microscope, water mounting (a and d) or with staining: ruthenium red (b), cotton blue (c). Scanning electron microscope (e). Scale: 10 μ m.



a) les éléments interascaux (fig. 7)

Les cellules stériles du tissu interascal (*sr*) apparaissent claires aux électrons du fait qu'elles contiennent de nombreuses et parfois très volumineuses vacuoles et peu de glycogène. Elles sont pourvues de plusieurs noyaux, petits et souvent situés en périphérie. Elles peuvent communiquer entre elles par un pore septal, obturé par une formation discoïde (fig. 8), légèrement épaissie au centre et présentant une alternance de bandes sombres et claires. Les septums entre cellule stérile et cellule de l'appareil sporophytique présentent en outre, du côté de la cellule stérile (fig. 9) une lame sombre épaisse rattachée aux bords du pore. Des corps cristalloïdes opaques sont visibles à proximité des septums.

Les cellules de l'appareil sporophytique (*sp*), de taille moyenne, ont un contenu beaucoup plus dense aux électrons comportant du glycogène, régulièrement réparti dans le cytoplasme, et des globules lipidiques, intercalés avec des vacuoles petites, nombreuses et claires.

b) les asques

Le plus jeune asque observé en microscopie électronique (fig. 10) montre la polarité déjà visible en microscopie photonique. La volumineuse partie basale est totalement occupée par du glycogène (*gl*). Dans la partie sommitale sont visibles deux noyaux (*n*), des vacuoles (*v*) de taille variable, des précipités globuleux fortement contrastés, probablement lipidiques, et des mitochondries.

C'est dans cette zone sommitale que se déroule l'ascosporogénèse chez les *Tuber* (Janex-Favre, 1977; Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1977 a et b, 1981; Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1976, 1980, 1983, 1988; Parguey-Leduc et al., 1987a), mais nous n'avons pas pu malheureusement l'observer chez *T. leonis*.

Dans l'asque sub-adulte, la délimitation, déjà observée en microscopie photonique, entre la zone périphérique riche en glycogène et la zone centrale contenant les ascospores, est très nette (fig. 11, flèche).

c) les ascospores

Les observations ont porté essentiellement sur l'évolution de leur paroi.

Au plus jeune stade observé (fig. 12 et 20 A), seule la paroi primaire est constituée, d'épaisseur régulière et légèrement opaque aux électrons. Ensuite se forme la paroi secondaire avec successivement de l'intérieur vers l'extérieur (fig. 13 et 20 B): l'épisporé (*ep*), épaisse, relativement opaque aux électrons; l'exosporé (*ex*), sous forme d'une couche pelucheuse; la périssporé (*pe*), irrégulièrement boursoufflée et contenant des précipités floconneux, et enfin l'ectosporé (*ec*) fine. Très rapidement la périssporé (*pe*) se dilate considérablement (fig. 11, 14 et 20 C).

Fig. 7-9: Ultrastructure du tissu interascal de *T. leonis*. Fig. 7: les deux types d'éléments du tissu interascal, *sr*: cellule stérile; *sp*: cellule de l'appareil sporophytique; fig. 8 et 9: détails de septums. Contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Echelle: 2 µm (fig. 7), 0,5 µm (fig. 8 et 9).

Fig. 7-9: Ultrastructure of interascal tissue in *T. leonis*. Fig. 7: both types of elements. *sr*: sterile cell; *sp*: sporophytic cell. Fig. 8 and 9: details of septa. Contrast: uranyl acetate and lead citrate. Scale: 2µm (fig. 7), 0,5 µm (fig. 8 and 9).

Ensuite l'exospore se complique et se subdivise en deux parties (fig. 15 à 17): une partie basale, mince, régulière, totalement opaque aux électrons, et une partie supérieure, qui forme l'ornementation. Celle-ci apparaît d'abord sous forme de protubérances en forme de dôme, de texture arachnoïde, coiffées par des croûtes opaques discontinues (fig. 15 et 20 D). Ces protubérances, confluentes à la base, s'accroissent progressivement tandis que les croûtes s'étendent à leur surface, jusqu'à former une couche continue uniforme (fig. 16, 17 et 20E). Puis les protubérances exosporales deviennent très saillantes, et constituent des verrues tronconiques. A leur extrémités la croûte opaque, qui s'est fragmentée et épaissie irrégulièrement (fig. 18 et 20 F), cesse finalement d'être distincte, par suite de l'opacification progressive de l'ensemble des verrues (fig. 19 et 20 G). L'ornementation caractéristique de l'espèce, qui forme en coupe une roue crantée, est alors réalisée.

Fig. 10 et 11: Ultrastructure des asques de *T. leonis*. Fig. 10: asque jeune avec stratification superposée de ses constituants. *gl*: glycogène, *n*: noyau, *v*: vacuole. Fig. 11: asque sub-adulte. La flèche montre la délimitation entre la zone périphérique et la zone centrale qui contient les ascospores (*pe*: périspore de l'une d'elles). Contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Echelle: 2 µm.

Fig. 10 and 11: Ascus ultrastructure in *T. leonis*. Fig. 10: young ascus, with internal components distributed in two superimposed layers. *gl*: glycogen, *n*: nucleus, *v*: vacuole. Fig. 11: subadult ascus. Arrow points to the limit between peripheral and central zones (*pe*: perispore of an ascospore located in the central zone). Contrast: uranyl acetate and lead citrate. Scale: 2 µm.

Fig. 12-14: Evolution ultrastructurale de la paroi des ascospores de *T. leonis*. Fig. 12: paroi primaire. Fig. 13: paroi secondaire comprenant de l'intérieur vers l'extérieur l'épispore *ep*, l'exospore *ex*, la périspore *pe* et l'ectospore *ec*. Fig. 14: paroi avec périspore *pe* très développée. Contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Echelle: 1 µm (fig. 12), 0,5 µm (fig. 13), 2 µm (fig. 14).

Fig. 12-14: Ultrastructural development of ascospore wall in *T. leonis*. Fig. 12: primary wall. Fig. 13: secondary wall. From interior to exterior: *ep*, epispore; *ex*, exospore; *pe*, perispore and *ec*, ectospore. Fig. 14: ascospore wall with inflated perispore *pe*. Contrast: uranyl acetate and lead citrate. Scale: 1 µm (Fig. 12), 0,5 µm (fig. 13), 2 µm (fig. 14).

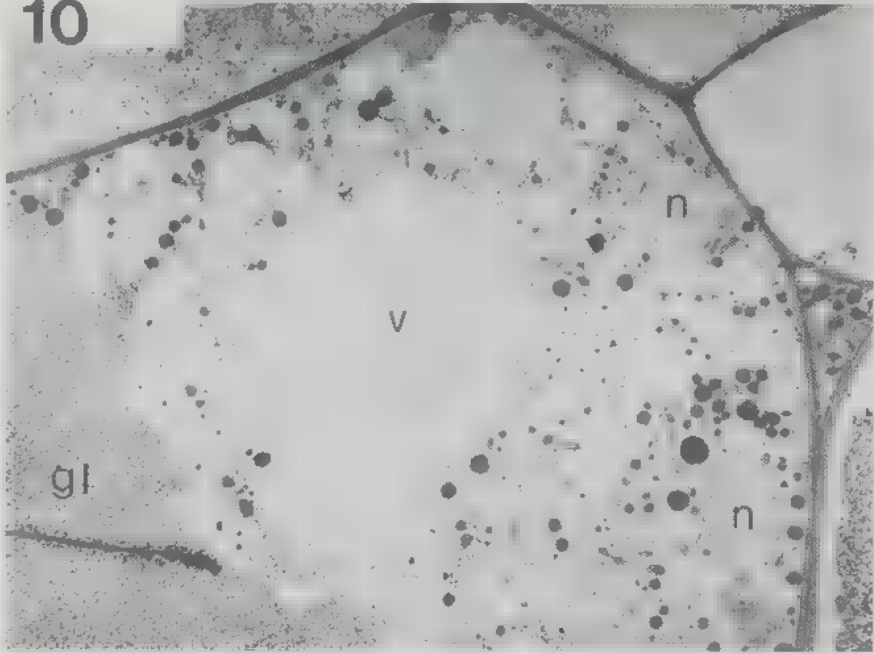
Fig. 15-17: Evolution ultrastructurale de la paroi des ascospores de *T. leonis* (suite). Complexité croissante de l'exospore, qui produit l'ornementation. Contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (fig. 15 et 16) et test de Thiéry (fig. 17). Echelle: 0,25 µm (fig. 15), 0,5 µm (fig. 16 et 17).

Fig. 15-17: Ultrastructural development of ascospore wall in *T. leonis* (continued). Exospore development produces the ornamentation. Contrast: uranyl acetate and lead citrate (fig. 15 and 16); Thiéry's test (fig. 17). Scale: 0,25 µm (fig. 15), 0,5 µm (fig. 16 and 17).

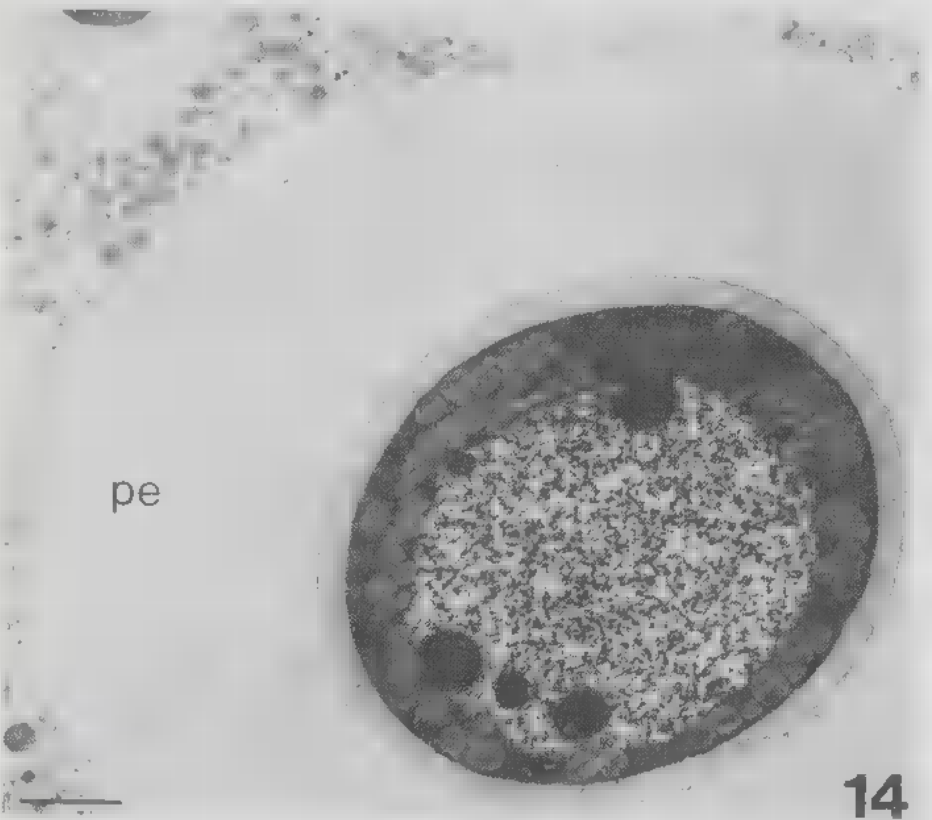
Fig. 18 et 19: Evolution ultrastructurale de la paroi des ascospores de *T. leonis* (fin). Réalisation de l'ornementation caractéristique en roue crantée. Contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Echelle: 1 µm (fig. 18), 0,5 µm (fig. 19).

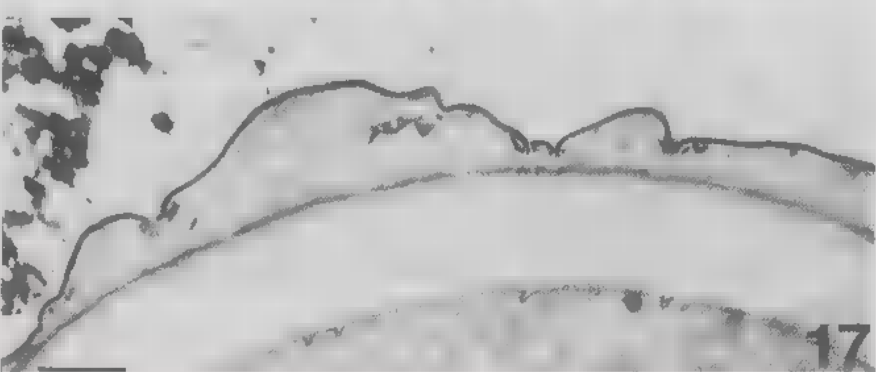
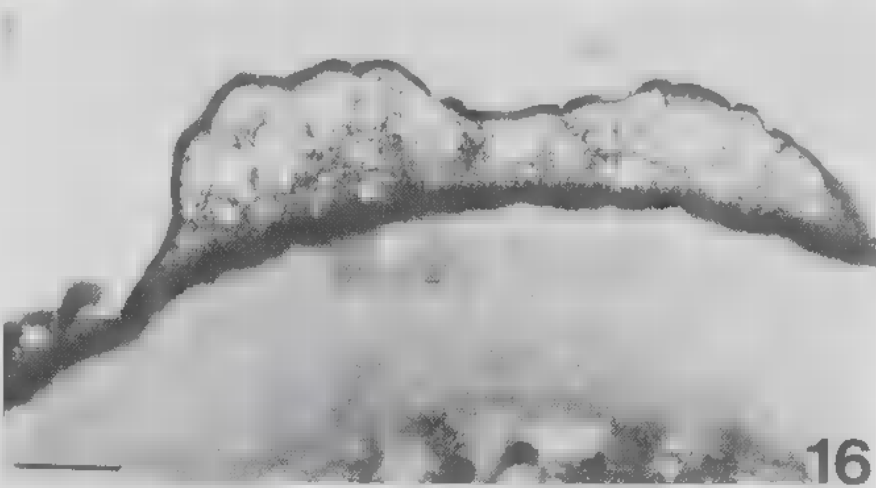
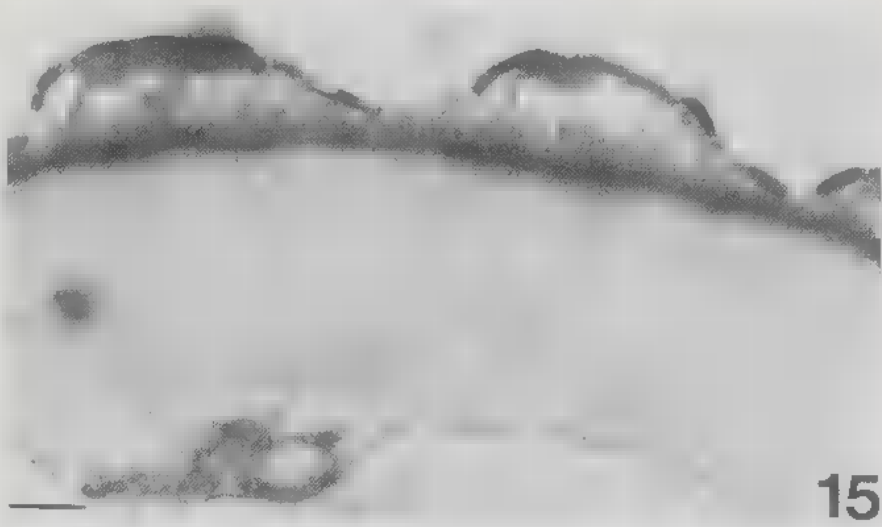
Fig. 18 and 19: Ultrastructural development of ascospore de *T. leonis* (the end). Specific ornamentation reproducing in section a cogged wheel. Contrast: uranyl acetate and lead citrate. Scale: 1 µm (fig. 18), 0,5 µm (fig. 19).

10



11

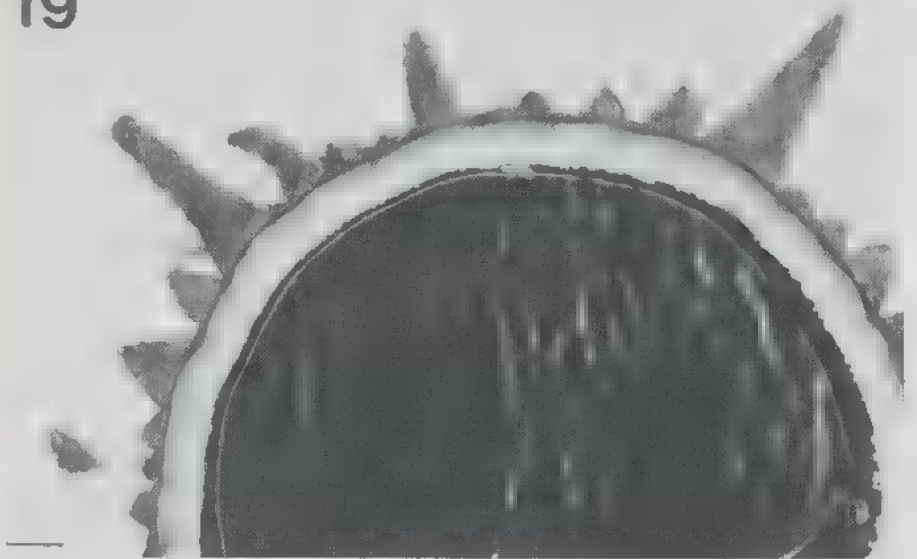




18



19



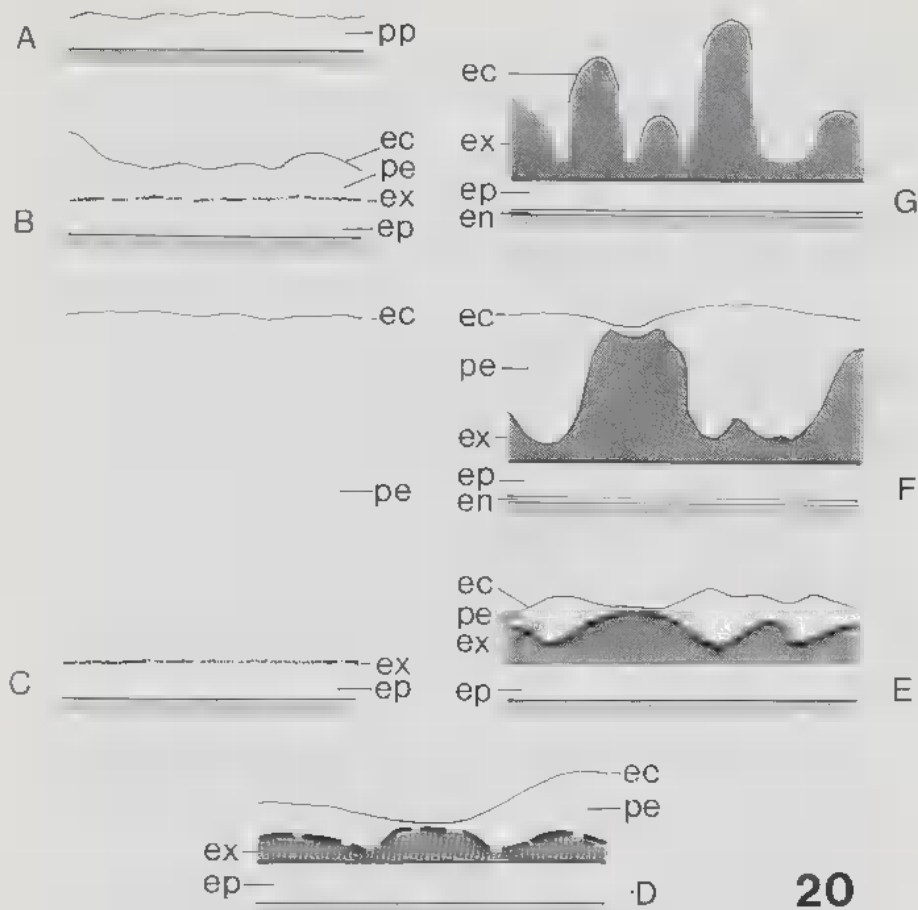


Fig. 20: A à G. évolution de la paroi ascosporale de *T. leonis*. Schémas récapitulatifs. *ec*: ectospore, *en*: endospore, *ep*, épispore, *ex*: exospore, *pe*: périspore, *pp*: paroi primaire.

Fig. 20: A to G, ascospore wall development in *T. leonis*. Diagrams. *ec*: ectospore, *en*: endospore, *ep*: epispore, *ex*: exospore, *pe*: perispore, *pp*: primary wall.

Les autres parties de la paroi ascosporale évoluent également. L'ectospore, mince, entraînée par l'allongement des verrues, tend à se déchirer entre celles-ci, pour finalement ne coiffer que leur extrémité. Corrélativement, une endospore (*en*) régulière, mince, apparaît à la base de l'épispore, mais sa distinction s'atténue au stade adulte du fait qu'une fine stratification, avec alternance irrégulière de couches claires et opaques, apparaît dans l'épispore.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'étude que nous avons rapportée montre que l'ascospore hypogée de *T. leonis* comporte, comme ceux de *T. leptoderma* (Janex-Favre et al., 1988) et des divers *Tuber*,

un péricidium et une glèbe: ces deux parties fondamentales présentent toutefois des caractères différents dans les deux genres. Ainsi, le péricidium est lisse chez les *Terfezia*, tandis qu'il peut être écaillé chez les *Tuber*, en particulier *T. melanosporum*. Dans la glèbe des *Terfezia* les asques et le tissu interascal forment des nodules que sépare un réseau stérile formé de cellules polygonales étroitement accolées. Ainsi organisé, ce réseau dense ne constitue pas un système de veines stériles aussi caractérisé que chez les *Tuber*. Ces dernières sont en effet nettement individualisées dans la glèbe du fait qu'elles sont bordées par une palissade dense de paraphyses. Les *Tuber* présentent ainsi un hyménium dissocié (paraphyses dans les veines stériles et asques dans les veines fertiles) alors que les *Terfezia*, dépourvues de paraphyses n'ont pas d'hyménium. Quant au tissu interascal de *T. leonis*, il présente, comme celui de *T. leptoderma*, une texture dense, ce qui le distingue de celui des *Tuber*, qui est formé d'un enchevêtrement de files cellulaires distinctes (Parguey-Leduc et al., 1987 b, 1988, 1989, 1990).

Les asques de *T. leonis* évoluent globalement comme ceux de *T. claveryi* (Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1985) et de *T. leptoderma* (Janex-Favre et al., 1988) d'une part, et ceux des *Tuber* d'autre part. D'abord de forme allongée, à un stade très jeune, ils deviennent rapidement globuleux. Ils montrent une polarité dans la répartition de leurs constituants, qui se modifie au cours du développement. Dans l'asque jeune, il y a superposition de deux zones: une zone sporogène, au sommet, et au-dessous une zone contenant des réserves. Par la suite ces deux zones deviennent concentriques: celle contenant les ascospores se situe au centre de l'asque et celle qui renferme le glycogène en périphérie.

Les asques contiennent huit ascospores chez les *Terfezia*, alors que chez les *Tuber*, le nombre d'ascospores varie de un à huit. Dans les deux genres la paroi ascospore est complexe et ornée, mais des différences existent, concernant l'origine de l'ornementation et l'existence d'une endospore. Ainsi l'ornementation de la paroi des ascospores adultes de *T. leonis*, qui ne correspond pas, comme le suggérait Malençon (1973), à des craquelures prismatiques de la périspore, est constituée en réalité de protubérances exosporeales qui confèrent aux ascospores, vues en coupe, la forme d'une roue crantée. Chez les *Tuber*, selon les espèces, l'ornementation de la paroi ascosporeale peut également dériver de l'exospore (cas de *T. aestivum* et *T. melanosporum*, Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1983), ou être formée par la périspore. Une endospore se différencie chez *T. leonis*, comme chez *T. claveryi*, sans toutefois demeurer aussi distincte au stade final. Chez *T. leptoderma* et les *Tuber*, par contre, elle ne se forme pas.

En conclusion, cette étude montre que les caractères fondamentaux d'organisation de l'ascarpe et des asques de *T. leonis* sont proches de ceux des autres Terfez déjà étudiés mais également, malgré certaines différences mineures, de ceux des *Tuber*. Ces caractères étant tout à fait originaux par rapport à ceux des autres Discomycètes, cela justifie que les genres *Terfezia* et *Tuber* soient réunis dans l'ordre des Tubérolales. Le fait que quelques caractères se retrouvent chez les Pézizales, en particulier les formations septales des hyphes stériles (Schrantz, 1970; Curry & Kimbrough, 1983; Kimbrough & Curry, 1986 ■ et b) permet toutefois de penser que ces deux ordres de Discomycètes ont pu dériver d'un ancêtre commun.

Remerciements

Nous remercions amicalement pour leur aide technique: M. AVNAIM, J. BIDOUX, C. FOURNIGAULT, T. JALANTI, N. JAMPSIN et H. KHABAR.

BIBLIOGRAPHIE

- AL-SHABIBI M.M.A., TOMA S.J. and HADDAD B.A., 1982 - Studies on Iraqi truffles. I. Proximate analysis and characterization of lipids. *Can. Ins. Food Sci. Technol. J.* 15: 200-202.
- ASHOUR A.A., MOHAMED M.A. and HAMI M.A., 1981 - Libyan truffles *Terfezia boudieri* Chatin: chemical composition and toxicity. *J. Food Sci.* 46: 927-929.
- BATAILLE M.F., 1921 - Flore analytique et descriptive des Tubéroïdes de l'Europe et de l'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Mycol. France* 37: 155-207.
- CHATIN A., 1891 - Contribution à l'histoire naturelle de la Truffe. *Bull. Soc. Bot. France* 38: 54-65.
- CURRY K.J. and KIMBROUGH J.W., 1983 - Septal structures in apothecial tissues of the Pezizaceae (Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 75: 781-794.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1976 - La formation des ascospores chez deux Truffes: *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *Compt.Rend. Acad. Sci. Paris* 283: 1173-1175.
- JANEX-FAVRE M.C., 1977 - La paroi des ascospores du *Tuber rufum* Pico. *Bull. Soc. Mycol. France* 93: 407-424.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1980 - Formation et évolution des ascospores du *Tuber mesentericum* Vitt. *Bull. Soc. Mycol. France* 96: 225-237.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1983 - Etude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du genre *Tuber*: II. Les ascospores. *Cryptog., Mycol.* 4: 353-373.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1985 - Les asques et les ascospores du *Terfezia clavervii* Ch. (Tubérales). *Cryptog., Mycol.* 6: 87-99.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1988 - Les asques des *Tuber* (Discomycètes Tubérales): particularités morphologiques et structurales. *Atti del II Congresso Internazionale sul Tartufo, Spoleto, Italie, 24/27 Novembre 1988*: 111-120.
- JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. et RIOUSSET L., 1988 - L'ascospore hypogée d'une Terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 104: 145-178.
- KIMBROUGH J.W. and CURRY K.J., 1986 a - Septal structures in apothecial tissue of the tribe Aleurieae in the Pyrenomataceae (Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 78: 407-417.
- KIMBROUGH J.W. and CURRY K.J., 1986 b - Septal structures in apothecial tissue of taxa in the tribes Scutellinieae and Sowerbyelleae (Pyrenomataceae, Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 78: 735-743.
- LANGIU T., 1979 - La *Terfezia leonis* in Sardegna. *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola, Trento* 22: 32-35.
- MALENCON G., 1973 - Champignons hypogés du Nord de l'Afrique. *Persoonia* 7: 261-288.
- MATTIROLO O., 1905 - Prima contribuzione allo studio della flora ipogea del Portogallo. *Bol. Soc. broteriana* 21: 86-105.
- METRO A. et SAUVAGE C., 1955 - *La nature du Maroc. I. Flore des végétaux ligneux de la Mamora*, Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc, Rabat, 500 p.
- MOYEN J., 1889 - *Les champignons: traités élémentaires et pratiques de Mycologie*, J. Rotschild, Paris, 762 p.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 a - L'ornementation des ascospores chez le *Tuber aestivum* Vitt. Travaux dédiés à G. Viennot-Bourgin. *Soc. Fr. Phytopathol.*: 307-323.

- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 b - L'organisation des asques de deux Truffes: *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. *Rev. Mycol.* 41: 1-32.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 - Etude ultrastructurale des asques et des ascospores des Truffes du genre *Tuber*. I. Les asques. *Cryptog., Mycol.* 2: 37-53.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1987 a - Formation et évolution des ascospores de *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Canad. J. Bot.* 65: 1491-1503.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1987b - Morphologie et structure de l'ascospore adulte du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptog., Mycol.* 8: 173-202.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1988 - L'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes): structure de la glèbe. I. Les veines fertiles. *Atti del II Congresso Internazionale sul Tartufo. Spoleto, Italie. 24/27 Novembre 1988*: 101-109.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1989 - Ontogénie et structure de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 105: 227-246.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1990 - L'appareil sporophytique et les asques du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptog., Mycol.* 11: 47-68.
- SCHRANTZ J.P., 1970 - Etude cytologique, en microscopie optique et électronique, de quelques Ascomycètes. II. La paroi. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 33: 11-168.
- THIERY J.C., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie* 6: 987-1018.
- TRAPPE J.M., 1971 - A synopsis of the Carbotmycetaceae and Terfeziaceae (Tubérisales); *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57: 85-92.
- WESTBROOK M.A., 1935 - Observation on nuclear structure in the Florideae. *Beih. Bot. Centralbl.* 53: 564-585.